

c'est la façon absolument régulière dont le minéral actuel est orienté sur le minéral ancien.

Les lames hexagonales sont en effet constituées par un très grand nombre de cristaux de marcasite de la forme m (110), p (001); ils sont aplatis suivant cette dernière forme, qui est finement striée parallèlement à l'axe a . Tous ces cristaux ayant souvent moins de 0 mill. 3 sont orientés de telle sorte que leur axe binaire b correspond en direction avec l'axe sénaire du prisme hexagonal, et que leur axe a coïncide avec l'un des axes binaires du prisme hexagonal qui sont parallèles aux arêtes basiques de celui-ci. Il en résulte que chaque face du prisme hexagonal est recouverte de cristaux de marcasite dont les stries sont parallèles entre elles et coïncident en direction avec celles qui existent normalement dans la pyrrhotine.

L'examen de la base de ces pseudomorphoses montre que les pointements de cristaux de marcasite y sont orientés parallèlement aux arêtes hexagonales; ils sont souvent recouverts de cristaux plus ou moins réguliers.

Ces pseudomorphoses fournissent un nouvel et remarquable exemple de cette tendance à un idéal de symétrie aussi grande que possible, dont on trouve tant d'exemples dans le règne minéral.

SUR LA SÉPARATION DE LA LACCASE ET DE LA TYROSINASE
CONTENUES DANS LE SUC DE CERTAINS CHAMPIGNONS,

PAR M. GABRIEL BERTRAND.

Au cours de mes premières recherches sur les *oxydases* ou ferments solubles oxydants, j'ai mis en évidence, chez les végétaux, deux espèces distinctes de cette nouvelle classe de corps ⁽¹⁾. L'une de ces espèces, la laccase, se rencontre pour ainsi dire chez toutes les plantes; elle fixe l'oxygène gazeux sur certains dérivés aromatiques, tels que l'hydroquinone et le pyrogallol, mais n'a aucune action sur la tyrosine. L'autre, ou tyrosinase, semble beaucoup moins répandue; elle oxyde la tyrosine qu'elle colore en rouge, puis en noir, au contact de l'air.

Les nouvelles observations que je vais rapporter ont pour objet la présence simultanée de ces deux oxydases dans un même suc végétal et le moyen qui m'a permis de les séparer.

Quand on plonge dans le chloroforme ou l'éther lavé des champignons, comme les Russules ou certains Lactaires, dont le tissu se colore fortement en bleu par la teinture de gayac, il se sépare peu à peu, en une

⁽¹⁾ *Bull. du Muséum*, 1895, p. 134, et 1896, p. 206.

couche plus ou moins colorée, un liquide doué d'énergiques propriétés oxydantes. Cette séparation de suc cellulaire est déjà très sensible après vingt-quatre heures, mais, comme elle augmente pendant deux ou trois jours, il convient d'opérer en flacons pleins et dans l'obscurité, pour éviter l'altération possible des ferments solubles, surtout à craindre en présence d'éther.

Ce liquide, comme ceux qu'on obtient avec les mêmes champignons à l'aide des méthodes que j'ai déjà décrites⁽¹⁾, agit sur la tyrosine et, en même temps, possède à un haut degré tous les caractères d'une solution de laccase.

Or, comme la tyrosine est beaucoup plus difficile à oxyder que les diverses substances auxquelles s'attaque le ferment de l'arbre à laque, il y avait lieu de se demander si, dans le suc des champignons, on était en présence d'une seule oxydase, capable de réagir sur la tyrosine et, à plus forte raison, sur d'autres corps plus oxydables, ou bien, au contraire, si l'on avait affaire à un mélange de deux ferments distincts.

Pour résoudre cette question, j'ai mis à profit les observations que j'avais faites sur l'inégale résistance de la laccase et de la tyrosinase à l'action des réactifs et des agents physiques.

Du suc de *Russula cynoxantha* Schœffer ou *fætens* Persoon (en réalité une macération aqueuse de ces champignons desséchés dans le vide) a été chauffé au bain-marie, par portions de quelques centimètres cubes, dans des tubes scellés et presque pleins. Le bain étant maintenu à 50, 60 ou même 70 degrés, températures qui altèrent peu la laccase, on a retiré de temps en temps un des tubes pour en examiner le contenu. Dans chacune des trois séries d'expériences, on a reconnu la disparition complète du ferment de la tyrosine avant que le liquide cesse d'oxyder l'hydroquinone et de bleuir la résine de gayac. Le résultat était surtout net après dix à quinze minutes de chauffage à 70 degrés.

Il était probable, d'après cela, qu'on était en présence d'un mélange dans lequel la tyrosinase, plus altérable, avait été détruite avant toute la laccase. Il restait, pour compléter la démonstration, à séparer l'un de l'autre les deux ferments. C'est le résultat qu'on peut atteindre, d'une manière assez satisfaisante, en employant le moyen qui suit :

Un kilogramme de *Russula delica* Fries, fraîchement récolté, est réduit en pulpe et mis à macérer pendant une demi-heure avec son poids d'eau chloroformée, à la température ordinaire. En pressant, on extrait du magma un peu plus de deux litres d'un liquide faiblement mucilagineux, auquel on ajoute trois litres d'alcool à 95 degrés. Ce traitement fournit une liqueur et un précipité.

La liqueur est très active, mais, abandonnée à elle-même, surtout à la

⁽¹⁾ Bull. du Muséum, 1896, p. 206.

lumière, elle perd lentement ses propriétés oxydantes, à commencer par son action sur la tyrosine. Si, aussitôt obtenue, on la réduit par distillation dans le vide, c'est-à-dire vers 40 à 50 degrés, jusqu'au volume d'un demi-litre, il reste un liquide, que j'appellerai A, *capable d'oxyder très nettement l'hydroquinone et le pyrogallol, mais sans aucune action sur la tyrosine*. Le contact de l'alcool et l'action ménagée de la chaleur y ont détruit la tyrosinase, en respectant la laccase.

L'expérience suivante donnera une idée du pouvoir oxydant de cette solution de laccase : 1 gramme d'hydroquinone, dissous dans 100 parties d'eau et additionné de 2 centimètres cubes de la solution, a absorbé, en deux heures d'agitation à l'air : 13 cent. cubes 6 d'oxygène.

Le *précipité* possède, lui aussi, une partie des propriétés oxydantes du suc primitif. Pour le débarrasser autant que possible de la laccase qu'il retient, on le délaye dans 200 centimètres cubes d'eau chloroformée; lorsqu'il est bien regonflé, on le coagule par deux volumes d'alcool, puis on presse et l'on recommence encore une fois ces opérations.

Desséché à + 35 degrés, il pèse à peu près 7 grammes. Quand on le place dans l'eau froide, il s'y gonfle à peine et lui cède seulement 3 centièmes de son poids. La solution obtenue est incolore et, *bien qu'elle réagisse à peine sur l'hydroquinone et le pyrogallol, elle oxyde très rapidement la tyrosine* ⁽¹⁾.

Une telle solution, préparée avec un centième de son poids du précipité, ayant été éprouvée avec l'hydroquinone, comparativement avec la liqueur A, n'a provoqué qu'une absorption de 0 cent. cube 3 d'oxygène, et, cependant, elle agissait encore sur la tyrosine lorsqu'on la diluait de 100 volumes d'eau. A ce moment, son pouvoir oxydant vis-à-vis de l'hydroquinone était à celui de la liqueur A comme 1 est à 4.500.

Ainsi, en partant d'un même suc, extrait de certains champignons, on peut obtenir, d'un côté, un liquide riche en laccase, mais sans action sur la tyrosine, de l'autre, une solution manifestant à peine les réactions de ce ferment soluble, mais possédant celles de la tyrosinase. On ne peut mieux interpréter ces résultats, à l'heure actuelle, qu'en admettant l'individualité de la laccase et celle de la tyrosinase et, d'autre part, la présence simultanée de ces deux ferments solubles dans le même suc végétal.

(1) C'est parce que le Champignon avait été choisi très riche en tyrosinase qu'une partie de ce ferment soluble a résisté au traitement. Sans cette précaution, le précipité serait inactif. — Au cours de ces expériences, j'ai examiné plus de quarante espèces actives et, toujours, le suc manifestait les réactions simultanées de la laccase et de la tyrosinase; cela indique une relation étroite entre les deux ferments.